

(12) NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES
PATENTWESENS (PCT) VERÖFFENTLICHTE INTERNATIONALE ANMELDUNG

(19) Weltorganisation für geistiges Eigentum
Internationales Büro



(43) Internationales Veröffentlichungsdatum
1. April 2004 (01.04.2004)

PCT

(10) Internationale Veröffentlichungsnummer

WO 2004/026286 A2

not Sk

(51) Internationale Patentklassifikation⁷: A61K 31/00

(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP2003/008880

(22) Internationales Anmeldedatum:
11. August 2003 (11.08.2003)

(25) Einreichungssprache: Deutsch

(26) Veröffentlichungssprache: Deutsch

(30) Angaben zur Priorität:
102 38 722.2 23. August 2002 (23.08.2002) DE

(71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme von
US): BAYER HEALTHCARE AG [DE/DE]; 51368 Le-
verkusen (DE).

(72) Erfinder; und

(75) Erfinder/Anmelder (nur für US): BÖSS, Frank-Ger-
hard [DE/DE]; Auf dem Scheidt 29f, 42115 Wuppertal
(DE). ERB, Christina [DE/DE]; Uhlandstr. 4, 65830 Krif-
tel (DE). HENDRIX, Martin [DE/DE]; Im Geroden 5,
51519 Odenthal (DE). VAN KAMPEN, Marja [DE/DE];
Ahnenweg 2, 40219 Düsseldorf (DE). WUNDER, Frank
[DE/DE]; Schwarzer Weg 251, 42117 Wuppertal (DE).

(74) Gemeinsamer Vertreter: BAYER HEALTHCARE AG;
Law and Patents, Patents and Licensing, 51368 Leverkusen
(DE).

(81) Bestimmungsstaaten (national): AE, AG, AL, AM, AT,
AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR,
CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE,
GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR,
KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK,

MN, MW, MX, MZ, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT,
RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SY, TJ, TM, TN, TR,
TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW.

(84) Bestimmungsstaaten (regional): ARIPO-Patent (GH,
GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW),
eurasisches Patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ,
TM), europäisches Patent (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE,
DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IT, LU, MC, NL,
PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI-Patent (BF, BJ, CF, CG,
CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Erklärung gemäß Regel 4.17:

— hinsichtlich der Berechtigung des Anmelders, ein Patent zu
beantragen und zu erhalten (Regel 4.17 Ziffer ii) für die
folgenden Bestimmungsstaaten AE, AG, AL, AM, AT, AU,
AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ,
DE, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM,
HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK,
LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ,
NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG,
SK, SL, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, UZ, VC, VN,
YU, ZA, ZM, ZW. ARIPO-Patent (GH, GM, KE, LS, MW,
MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), eurasisches Patent (AM,
AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), europäisches Patent
(AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB,
GR, HU, IE, IT, LU, MC, NL, PT, RO, SE, SI, SK, TR),
OAPI-Patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW,
ML, MR, NE, SN, TD, TG)

Veröffentlicht:

— ohne internationalen Recherchenbericht und erneut zu ver-
öffentlichen nach Erhalt des Berichts

Zur Erklärung der Zweibuchstaben-Codes und der anderen Ab-
kürzungen wird auf die Erklärungen ("Guidance Notes on Co-
des and Abbreviations") am Anfang jeder regulären Ausgabe der
PCT-Gazette verwiesen.

(54) Title: SELECTIVE PHOSPHODIESTERASE 9A INHIBITORS AS MEDICAMENTS FOR IMPROVING COGNITIVE
PROCESSES

(54) Bezeichnung: SELEKTIVE PHOSPHODIESTERASE 9A-INHIBITOREN ALS ARZNEIMITTEL ZUR VERBESSERUNG
KOGNITIVER PROZESSE

(57) Abstract: The invention relates to the use of selective phosphodiesterase 9A (PDE9A) inhibitors for producing medicaments
for improving perception, powers of concentration, cognitive processes, learning capacity and/or memory retention.

(57) Zusammenfassung: Die Erfindung betrifft die Verwendung von selektiven Phosphodiesterase 9A (PDE9A)-Inhibitoren zur
Herstellung von Arzneimitteln zur Verbesserung von Wahrnehmung, Konzentrationsleistung, kognitiver Prozesse, Lernleistung
und/oder Gedächtnisleistung.

WO 2004/026286 A2

Selektive Phosphodiesterase 9A-Inhibitoren als Arzneimittel zur Verbesserung kognitiver Prozesse

Die Erfindung betrifft die Verwendung von selektiven Phosphodiesterase 9A (PDE 9A)-Inhibitoren zur Herstellung von Arzneimitteln zur Verbesserung von Wahrnehmung, Konzentrationsleistung, Lern- und/oder Gedächtnisleistung.

Die zelluläre Aktivierung von Adenylat- bzw. Guanylatzyklen bewirkt die Zyklisierung von ATP bzw. GTP zu 5'-3' zyklischem Adenosin Monophosphat (cAMP) bzw. 5'-3' zyklischem Guanosin monophosphat (cGMP). Diese zyklischen Nukleotide (cAMP und cGMP) sind wichtige second messenger und spielen daher eine zentrale Rolle in den zellulären Signaltransduktionskaskaden. Beide aktivieren unter anderem, aber nicht ausschließlich, jeweils wieder Protein Kinasen. Die von cAMP aktivierte Protein Kinase wird Protein Kinase A (PKA) genannt, die von cGMP aktivierte Protein Kinase wird Protein Kinase G (PKG) genannt. Aktivierte PKA bzw. PKG können wiederum eine Reihe zellulärer Effektorproteine phosphorylieren (z.B. Ionenkanäle, G-Protein gekoppelte Rezeptoren, Strukturproteine). Auf diese Weise können die second messengers cAMP und cGMP die unterschiedlichsten physiologischen Vorgänge in den verschiedensten Organen kontrollieren. Die zyklischen Nukleotide können aber auch direkt auf Effektormoleküle wirken. So ist z.B. bekannt, dass cGMP direkt auf Ionenkanäle wirken kann und hiermit die zelluläre Ionenkonzentration beeinflussen kann (Übersicht in: Wei et al., Prog. Neurobiol., 1998, 56: 37 – 64). Ein Kontrollmechanismus, um die Aktivität von cAMP und cGMP und damit diese physiologischen Vorgänge wiederum zu steuern, sind die Phosphodiesterasen (PDE). PDEs hydrolysieren die zyklischen Monophosphate zu den inaktiven Monophosphaten AMP und GMP. Es sind mittlerweile mindestens 21 PDE Gene beschrieben (*Exp. Opin. Investig. Drugs* 2000, 9, 1354-3784). Diese 21 PDE Gene lassen sich aufgrund ihrer Sequenzhomologie in 11 PDE Familien einteilen (Nomenklatur Vorschlag siehe <http://depts.washington.edu/pde/Nomenclature.html>). Einzelne PDE Gene innerhalb einer Familie werden durch Buchstaben unterschieden (z.B. PDE1A und PDE1B).

Falls noch unterschiedliche Splice Varianten innerhalb eines Genes vorkommen, wird dies dann durch eine zusätzliche Nummerierung nach dem Buchstaben angegeben (z.B. PDE1A1).

5 **Abbildungen:**

Abb. 1: Intrazelluläre cGMP-Konzentration in primären Ratten (E18)-Kortexkulturen nach Behandlung mit Beispiel 2. Die Zellen wurden 20 min mit Beispiel 2 in den angegebenen Konzentrationen inkubiert. Die Mediumkontrolle gibt den cGMP Wert in unbehandelten Zellen an. Der DMSO Gehalt betrug in den Mediumkontrollen wie in den substanzbehandelten Zellen 0.2 %. Die cGMP Konzentration ist aufgetragen in fmol/150000 Zellen.

Abb. 2: Effekt von Beispiel 2 (10 μ M) auf die Potenzierung des fokalen exzitatorischen postsynaptischen Potentials (fEPSP) nach schwachem Tetanus. Beispiel 2 verstärkte den Anstieg des fEPSPs signifikant, wenn es 10 Minuten vor bis 30 Minuten nach einem schwachen Tetanus eingewaschen wurde (geschlossene Symbole). Die Kontrolle wurde mit 0.01 % DMSO behandelt (offene Symbole). *: $p < 0.05$; Varianzanalyse mit den Faktoren Dosierung (0 und 10 μ M) und Testzeitpunkt mit dem Faktor Messzeitpunkt.

Abb. 3: Wirkung von Beispiel 2 auf die prozentuale Reduktion (Trial 2/Trial 1) der Interaktionszeit im Sozialen Wiedererkennungstest (Mittelwert + S.E.M). Den Tieren wurde Vehikel (10 % Ethanol, 20 % Solutol, 70 % physiologische Kochsalzlösung) oder 0,1 mg/kg, 0,3 mg/kg, 1,0 mg/kg bzw. 3,0 mg/kg von Beispiel 2 intraperitoneal direkt nach dem ersten Zusammentreffen (Trial 1) injiziert. Statistische Auswertung: * $p < 0.05$.

PDE9A – Entdeckung, Eigenschaften, Verteilung

Die Humane PDE9A (GenBank/EMBL Accession Number NM_002606, cDNA Sequenz siehe Sequence Listing, SEQ ID NO:1) wurde 1998 kloniert und sequenziert. Die Aminosäurenidentität zu anderen PDEs liegt bei maximal 34 % (PDE8A)

und minimal 28 % (PDE5A). Mit einem K_m -Wert von 170 nM ist PDE9A hochaffin für cGMP. Darüber hinaus ist PDE9A selektiv für cGMP (K_m -Wert für cAMP = 230 μ M). PDE9A weist keine cGMP Bindungsdomäne auf (GAF-Domäne), die auf eine allosterische Enzymregulation durch cGMP schließen ließe. In einer Western Blot Analyse wurde gezeigt, dass die PDE9A im Mensch in Hoden, Gehirn, 5 Dünndarm, Skelettmuskulatur, Herz, Lunge, Thymus und Milz exprimiert wird. Die höchste Expression wurde in Gehirn, Dünndarm, Herz und Milz gefunden (Fisher et al., J. Biol. Chem, 1998, 273 (25): 15559 – 15564). Das Gen für die humane PDE9A liegt auf Chromosom 21q22.3 und enthält 20 Exons. Bisher wurden 20 alternative 10 Spleißvarianten der PDE9A identifiziert (Guipponi et al., Hum. Genet., 1998, 103: 386 – 392; Rentero et al., Biochem. Biophys. Res. Commun., 2003, 301: 686 – 692). Klassische PDE Inhibitoren hemmen die humane PDE9A nicht. So zeigen IBMX, Dipyridamole, SKF94120, Rolipram und Vinpocetin in Konzentrationen bis 100 μ M keine Inhibition am isolierten Enzym. Für Zaprinast wurde ein IC_{50} -Wert von 35 μ M 15 nachgewiesen (Fisher et al., J. Biol. Chem, 1998, 273 (25): 15559 – 15564).

Die Maus PDE9A wurde 1998 von Soderling et al. (J. Biol. Chem, 1998, 273 (19): 15553 – 15558) kloniert und sequenziert. Diese ist wie die humane Form hochaffin für cGMP mit einem K_m -Wert von 70 nM. In der Maus wurde eine besonders hohe 20 Expression in Niere, Gehirn, Lunge und Herz gefunden. Auch die Maus PDE9A wird von IBMX in Konzentrationen unter 200 μ M nicht gehemmt; der IC_{50} für Zaprinast liegt bei 29 μ M (Soderling et al., J. Biol. Chem, 1998, 273 (19): 15553 – 15558). Im Rattengehirn wurde gezeigt, dass PDE9A in einigen Hirnregionen stark exprimiert wird. Dazu zählen der Bulbus olfactorius, Hippocampus, Cortex, Basalganglien und 25 basales Vorderhirn (Andreeva et al., J. Neurosci., 2001, 21 (22): 9068 – 9076). Insbesondere Hippokampus, Cortex und basales Vorderhirn spielen eine wichtige Rolle in Lern- und Gedächtnisvorgängen.

PDE9A zeichnet sich durch eine besonders hohe Affinität für cGMP aus. Der 30 K_m -Wert für cGMP beträgt 170 nM (Fisher et al., J. Biol. Chem., 1998, 273 (25): 15559 – 15564). Deshalb ist PDE9A im Gegensatz zu PDE2A (K_m = 10 μ M;

Martins et al., J. Biol. Chem., 1982, 257: 1973 - 1979), PDE5A ($K_m = 4 \mu M$; Francis et al., J. Biol. Chem., 1980, 255: 620 - 626), PDE6A ($K_m = 17 \mu M$; Gillespie and Beavo, J. Biol. Chem., 1988, 263 (17): 8133 - 8141) und PDE11A ($K_m = 0,52 \mu M$; Fawcett et al., PNAS, 2000, 97 (7): 3702 - 3707) schon bei niedrigen physiologischen Konzentrationen aktiv. Im Gegensatz zu PDE2A (Murashima et al., Biochemistry, 1990, 29: 5285 - 5292) wird die katalytische Aktivität von PDE9A nicht durch cGMP gesteigert, da es keine GAF Domäne aufweist (Beavo et al., Current Opinion in Cell Biology, 2000, 12: 174 - 179). PDE9A Inhibitoren führen deshalb zu einer Erhöhung der basalen cGMP Konzentration (siehe Abbildung 1).
5 Diese Erhöhung der basalen cGMP Konzentration führte überraschenderweise zu einer Verbesserung der Lern- und Gedächtnisleistung im Social Recognition Test.
10

Überraschenderweise wurde nachgewiesen, dass PDE9A Inhibitoren eine Wirkung auf die Funktion des zentralen Nervensystems haben. Insbesondere wurde nun gefunden, dass selektive PDE9A-Inhibitoren zur Herstellung von Arzneimitteln zur Verbesserung der Wahrnehmung, Konzentrationsleistung, Lernleistung oder Gedächtnisleistung geeignet sind.
15

Ein PDE9A-Inhibitor im Sinne der Erfindung ist eine Verbindung, die humane PDE 9A unter den unten angegebenen Bedingungen mit einem IC_{50} von weniger als $10 \mu M$, bevorzugt weniger als $1 \mu M$ hemmt.
20

Ein selektiver PDE9A-Inhibitor im Sinne der Erfindung ist eine Verbindung, die humane PDE9A unter den unten angegebenen Bedingungen stärker hemmt als die humanen PDE1C, PDE2A, PDE3B, PDE4B, PDE5A, PDE7B, PDE8A, PDE10A und PDE11A. Bevorzugt ist $IC_{50} (PDE9A) / IC_{50} (PDE1C, PDE2A, PDE3B, PDE4B, PDE5A, PDE7B, PDE8A, PDE10A \text{ und } PDE11A)$ kleiner als 0,2.
25

Besonders eignen sich die selektiven PDE9A-Inhibitoren zur Verbesserung der Wahrnehmung, Konzentrationsleistung, Lernleistung, oder Gedächtnisleistung nach Kognitiven Störungen, wie sie insbesondere bei Situationen/Krankheiten/Syndromen
30

auftreten wie „Mild cognitive impairment“, Altersassoziierte Lern- und Gedächtnisstörungen, Altersassoziierte Gedächtnisverluste, Vaskuläre Demenz, Schädel-Hirn-Trauma, Schlaganfall, Demenz, die nach Schlaganfällen auftritt („post stroke dementia“), post-traumatische Demenz, allgemeine Konzentrationsstörungen, Konzentrationsstörungen in Kindern mit Lern- und Gedächtnisproblemen, 5 Alzheimersche Krankheit, Demenz mit Lewy-Körperchen, Demenz mit Degeneration der Frontallappen einschließlich des Pick's Syndroms, Parkinsonsche Krankheit, Progressive nuclear palsy, Demenz mit corticobasaler Degeneration, Amyotrophe Lateralsklerose (ALS), Huntingtonsche Krankheit, Multiple Sklerose, Thalamische Degeneration, 10 Creutzfeld-Jacob-Demenz, HIV-Demenz, Schizophrenie mit Demenz oder Korsakoff-Psychose.

Die Erfindung betrifft die Verwendung von selektiven PDE9A-Inhibitoren zur Herstellung von Arzneimitteln zur Verbesserung der Wahrnehmung, Konzentrationsleistung, kognitiver Prozesse, Lernleistung und/oder Gedächtnisleistung. 15

Des weiteren betrifft die Erfindung die Verwendung von selektiven PDE9A-Inhibitoren zur Prophylaxe und/oder Behandlung von Störungen der Wahrnehmung, Konzentrationsleistung, kognitiver Prozesse, Lernleistung und/oder Gedächtnisleistung. 20

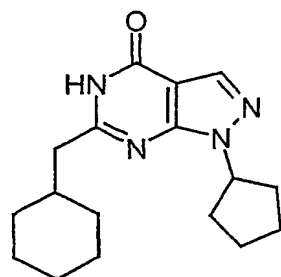
Dabei kann die Störung unter anderem eine Folge einer Erkrankung ausgewählt aus der Gruppe Demenz, Schlaganfall, Schädel-Hirn-Trauma, Alzheimersche Krankheit, Parkinsonsche Krankheit, Depression, oder Demenz mit Frontallappendegeneration 25 sein.

Des weiteren betrifft die Erfindung die Verwendung von PDE9A Inhibitoren zur Behandlung von Krankheiten des Zentralen Nervensystems, die durch Beeinflussung der cGMP-Spiegel therapiert werden können. So betrifft die Erfindung zum Beispiel 30 die Behandlung von Demenz, Schlaganfall Schädel-Hirn-Trauma, Alzheimersche Krankheit, Demenz mit Frontallappendegeneration, Lewy-Body-Demenz, vaskuläre

Demenz, Attention-Deficit-Syndrome, Aufmerksamkeits- und Konzentrationsstörungen, Parkinsonsche Krankheit, Schizophrenie, Depression, affektive Erkrankungen, Psychosen, Neurosen, Angst, Manie oder manisch-depressive Erkrankungen, Morbus Pick, Schmerz und Epilepsie.

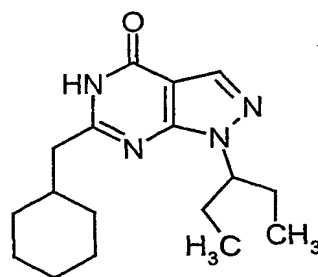
5

Die Erfindung betrifft bevorzugt die erfindungsgemäße Verwendung der PDE9A-Inhibitoren der Formeln



(I)

oder



(II)

10

Die Verbindungen der Formeln (I) und (II) können auch in Form ihrer Salze, Solvate oder Solvate ihrer Salze vorliegen. Im Rahmen der Erfindung sind physiologisch unbedenkliche Salze bevorzugt.

15

Physiologisch unbedenkliche Salze können Salze der erfindungsgemäßen Verbindungen mit anorganischen oder organischen Säuren sein. Bevorzugt werden Salze mit anorganischen Säuren, wie beispielsweise Chlorwasserstoffsäure, Bromwasserstoffsäure, Phosphorsäure oder Schwefelsäure, oder Salze mit organischen Carbon- oder Sulfonsäuren wie beispielsweise Essigsäure, Maleinsäure, Fumarsäure, Äpfelsäure, Zitronensäure, Weinsäure, Milchsäure, Benzoesäure, oder Methansulfonsäure, Ethansulfonsäure, Benzolsulfonsäure, Toluolsulfonsäure oder Naphthalindisulfonsäure.

20

25

Physiologisch unbedenkliche Salze können ebenso Metall- oder Ammoniumsalze der erfindungsgemäßen Verbindungen sein. Besonders bevorzugt sind Alkalimetallsalze (z.B. Natrium- oder Kaliumsalze), Erdalkalisalze (z.B. Magnesium- oder Calcium-

salze), sowie Ammoniumsalze, die abgeleitet sind von Ammoniak oder organischen Aminen, wie beispielsweise Ethylamin, Di- bzw. Triethylamin, Di- bzw. Triethanolamin, Dicyclohexylamin, Dimethylaminoethanol, Arginin, Lysin, Ethylendiamin oder 2-Phenylethylamin.

5

Die WO 98/40384 offenbart Pyrazolopyrimidine, die sich als PDE1-, 2- und 5-Inhibitoren auszeichnen und für die Behandlung von cardiovasculären, cerebrovasculären Erkrankungen sowie Erkrankungen des Urogenitalbereiches eingesetzt werden können.

10

In CH 396 924, CH 396 925, CH 396 926, CH 396 927, DE 1 147 234, DE 1 149 013, GB 937,726 werden Pyrazolopyrimidine mit coronarerweiternder Wirkung beschrieben, die zur Behandlung von Durchblutungsstörungen des Herzmuskels eingesetzt werden können.

15

Im US 3,732,225 werden Pyrazolopyrimidine beschrieben, die eine entzündungshemmende und Blutzucker-senkende Wirkung haben.

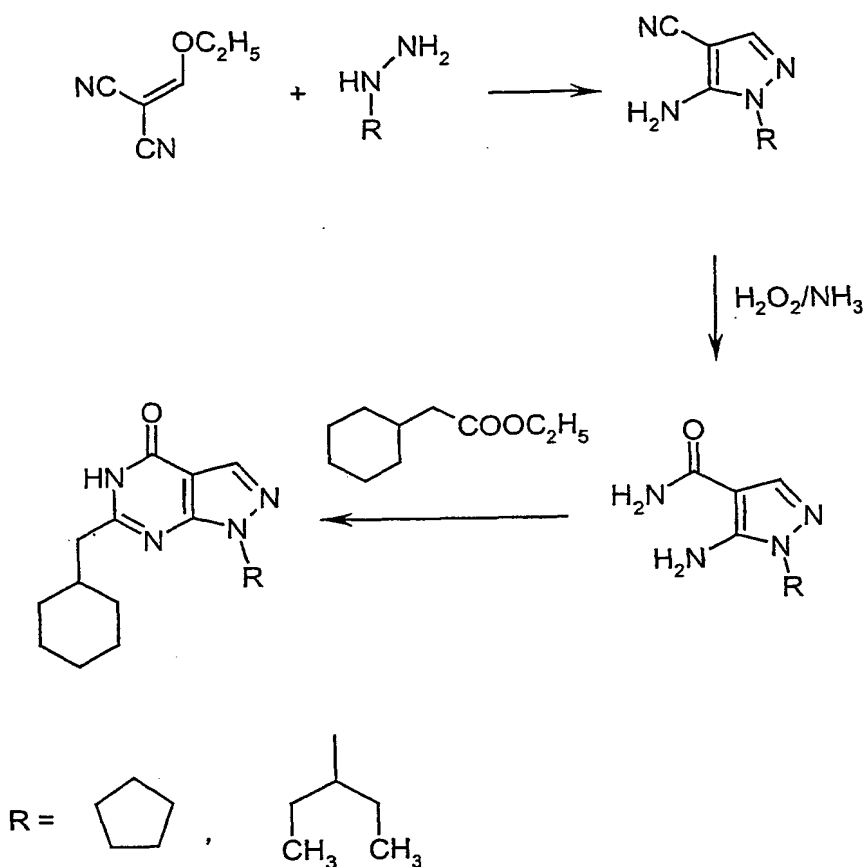
20

In DE 2 408 906 werden Styrolpyrazolopyrimidine beschrieben, die als antimikrobielle und entzündungshemmende Mittel für die Behandlung von beispielsweise Ödem eingesetzt werden können.

Die erfindungsgemäßen Verbindungen können über das im Folgenden beschriebene Syntheschema hergestellt werden:

25

- 8 -



Eine gegebenenfalls anschließende Umsetzung der Verbindungen der Formel (I) und (II) mit den entsprechenden (i) Lösungsmitteln und/oder (ii) Basen oder Säuren führt zu den entsprechenden Salzen, Solvaten und/oder Solvaten der Salze.

Der Wirkstoff kann systemisch und/oder lokal wirken. Zu diesem Zweck kann er auf geeignete Weise appliziert werden, wie z.B. oral, parenteral, pulmonal, nasal, sublingual, lingual, buccal, rektal, transdermal, conjunctival, otisch oder als Implantat.

Für diese Applikationswege kann der Wirkstoff in geeigneten Applikationsformen verabreicht werden.

Für die orale Applikation eignen sich bekannte, den Wirkstoff schnell und/oder modifiziert abgebende Applikationsformen, wie z.B. Tabletten (nichtüberzogene

sowie überzogene Tabletten, z.B. magensaftresistente Überzüge), Kapseln, Dragees, Granulate, Pellets, Pulver, Emulsionen, Suspensionen und Lösungen.

5 Die parenterale Applikation kann unter Umgehung eines Resorptionsschrittes geschehen (intravenös, intraarteriell, intrakardial, intraspinal oder intralumbal) oder unter Einschaltung einer Resorption (intramuskulär, subcutan, intracutan, percutan, oder intraperitoneal). Für die parenterale Applikation eignen sich als Applikationsformen u.a. Injektions- und Infusionszubereitungen in Form von Lösungen, Suspensionen, Emulsionen, Lyophilisaten und sterilen Pulvern.

10

Für die sonstigen Applikationswege eignen sich z.B. Inhalationsarzneiformen (u.a. Pulverinhalatoren, Nebulizer), Nasentropfen/-lösungen, Sprays; lingual, sublingual oder buccal zu applizierende Tabletten oder Kapseln, Suppositorien, Ohren- und Augenpräparationen, Vaginalkapseln, wässrige Suspensionen (Lotionen, Schüttelmixturen), lipophile Suspensionen, Salben, Cremes, Milch, Pasten, Streupuder oder Implantate.

15

Die Wirkstoffe können in an sich bekannter Weise in die angeführten Applikationsformen überführt werden. Dies geschieht unter Verwendung inerter nichttoxischer, pharmazeutisch geeigneter Hilfsstoffe. Hierzu zählen u.a. Trägerstoffe (z.B. mikrokristalline Cellulose), Lösungsmittel (z.B. flüssige Polyethylenglycole), Emulgatoren (z.B. Natriumdodecylsulfat), Dispergiermittel (z.B. Polyvinylpyrrolidon), synthetische und natürliche Biopolymere (z.B. Albumin), Stabilisatoren (z.B. Antioxidantien wie Ascorbinsäure), Farbstoffe (z.B. anorganische Pigmente wie Eisenoxide) oder Geschmacks- und/oder Geruchskorrigentien.

25

Im Allgemeinen hat es sich als vorteilhaft erwiesen, bei parenteraler Applikation Mengen von etwa 0,001 bis 30 mg/kg, vorzugsweise etwa 0,01 bis 10 mg/kg Körpergewicht zur Erzielung wirksamer Ergebnisse zu verabreichen. Bei oraler Applikation beträgt die Menge etwa 0,01 bis 100 mg/kg, vorzugsweise etwa 0,1 bis 30 mg/kg Körpergewicht.

30

Trotzdem kann es gegebenenfalls erforderlich sein, von den genannten Mengen abzuweichen, und zwar in Abhängigkeit von Körpergewicht, Applikationsweg, individuellem Verhalten gegenüber dem Wirkstoff, Art der Zubereitung und Zeitpunkt bzw. Intervall, zu welchem die Applikation erfolgt.

PDE-Inhibition

Rekombinante PDE1C (GenBank/EMBL Accession Number: NM_005020, Loughney et al. *J. Biol. Chem.* **1996** 271, 796-806), PDE2A (GenBank/EMBL
Accession Number: NM_002599, Rosman et al. *Gene* **1997** 191, 89-95), PDE3B
(GenBank/EMBL Accession Number: NM_000922, Miki et al. *Genomics* **1996** 36,
476-485), PDE4B (GenBank/EMBL Accession Number: NM_002600, Obermolte et
al. *Gene*. **1993** 129, 239-247), PDE5A (GenBank/EMBL Accession Number:
NM_001083, Loughney et al. *Gene* **1998** 216, 139-147), PDE7B (GenBank/EMBL
Accession Number: NM_018945, Hetman et al. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **2000**
97, 472-476), PDE8A (GenBank/EMBL Accession Number: AF_056490, Fisher et
al. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **1998** 246, 570-577), PDE9A (GenBank/EMBL
Accession Number NM_002606, cDNA Sequenz siehe Sequence Listing, SEQ ID
NO:1, Fisher et al., *J. Biol. Chem.*, **1998**, 273 (25): 15559 – 15564), PDE10A
(GenBank/EMBL Accession Number: NM_06661, Fujishige et al. *J. Biol. Chem.*
1999 274, 18438-45.), PDE11A (GenBank/EMBL Accession Number: NM_016953,
Fawcett et al. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **2000**, 97, 3702-3707) wurden mit Hilfe des
pFASTBAC Baculovirus Expressionssystems (GibcoBRL) in Sf9 Zellen exprimiert.
48 h nach der Infektion werden die Zellen geerntet und in 20 mL (pro 1L Kultur)
Lysispuffer (50 mM Tris-HCl, pH 7.4, 50 mM NaCl, 1 mM MgCl₂, 1.5 mM EDTA,
10% Glycerin plus 20 µL Protease Inhibitor Cocktail Set III [CalBiochem, La Jolla,
CA USA]) suspendiert. Die Zellen werden bei 4°C für 1 Minute mit Ultraschall
behandelt und anschließend für 30 Minuten bei 4°C mit 10000 Upm zentrifugiert.
Der Überstand (PDE Präparat) wurde gesammelt und bei -20°C aufbewahrt.

Die Testsubstanzen werden zur Bestimmung ihrer *in vitro* Wirkung an PDE 9A in 100% DMSO aufgelöst und seriell verdünnt. Typischerweise werden Verdünnungsreihen von 200 μM bis 1.6 μM hergestellt (resultierende Endkonzentrationen im Test: 4 μM bis 0.032 μM). Jeweils 2 μL der verdünnten Substanzlösungen werden in die Vertiefungen von Mikrotiterplatten (Isoplate; Wallac Inc., Atlanta, GA) vorgelegt. Anschließend werden 50 μL einer Verdünnung des oben beschriebenen PDE9A Präparates hinzugefügt. Die Verdünnung des PDE9A Präparates wird so gewählt, dass während der späteren Inkubation weniger als 70% des Substrates umgesetzt wird (typische Verdünnung: 1: 10000; Verdünnungspuffer: 50 mM Tris/HCl pH 7.5, 8.3 mM MgCl_2 , 1.7 mM EDTA, 0.2% BSA). Das Substrat, [8- ^3H] guanosine 3', 5'-cyclic phosphate (1 $\mu\text{Ci}/\mu\text{L}$; Amersham Pharmacia Biotech., Piscataway, NJ) wird 1:2000 mit Assaypuffer (50 mM Tris/HCl pH 7.5, 8.3 mM MgCl_2 , 1.7 mM EDTA) auf eine Konzentration von 0.0005 $\mu\text{Ci}/\mu\text{L}$ verdünnt. Durch Zugabe von 50 μL (0.025 μCi) des verdünnten Substrates wird die Enzymreaktion schließlich gestartet. Die Testansätze werden für 60 min bei Raumtemperatur inkubiert und die Reaktion durch Zugabe von 25 μL eines in Assaypuffer gelösten PDE9A-Inhibitors (z.B. der Inhibitor aus Herstellbeispiel 2, 10 μM Endkonzentration) gestoppt. Direkt im Anschluss werden 25 μL einer Suspension mit 18 mg/mL Yttrium Scintillation Proximity Beads (Amersham Pharmacia Biotech., Piscataway, NJ.) hinzugefügt. Die Mikrotiterplatten werden mit einer Folie versiegelt und für 60 min bei Raumtemperatur stehen gelassen. Anschließend werden die Platten für 30 s pro Vertiefung in einem Microbeta Szintillationzähler (Wallac Inc., Atlanta, GA) vermessen. IC_{50} -Werte werden anhand der graphischen Auftragung der Substanzkonzentration gegen die prozentuale Inhibition bestimmt.

Die *in vitro* Wirkung von Testsubstanzen an rekombinanter PDE3B, PDE4B, PDE7B, PDE8A, PDE10A und PDE11A wird nach dem oben für PDE 9A beschriebenen Testprotokoll mit folgenden Anpassungen bestimmt: Als Substrat wird [5',8- ^3H] adenosine 3', 5'-cyclic phosphate (1 $\mu\text{Ci}/\mu\text{L}$; Amersham Pharmacia Biotech., Piscataway, NJ) verwendet. Die Zugabe einer Inhibitorlösung zum Stoppen der Reaktion ist nicht notwendig. Stattdessen wird in Anschluss an die Inkubation

von Substrat und PDE direkt mit der Zugabe der Yttrium Scintillation Proximity Beads wie oben beschrieben fortgefahren und dadurch die Reaktion gestoppt. Für die Bestimmung einer entsprechenden Wirkung an rekombinanter PDE1C, PDE2A und PDE5A wird das Protokoll zusätzlich wie folgt angepasst: Bei PDE1C werden zusätzlich Calmodulin 10^{-7} M und CaCl_2 3mM zum Reaktionsansatz gegeben. PDE2A wird im Test durch Zugabe von cGMP 1 μM stimuliert und mit einer BSA Konzentration von 0,01 % getestet. Für PDE1C und PDE2A wird als Substrat $[5',8\text{-}^3\text{H}]$ adenosine 3', 5'-cyclic phosphate (1 $\mu\text{Ci}/\mu\text{L}$; Amersham Pharmacia Biotech., Piscataway, NJ), für PDE5A $[8\text{-}^3\text{H}]$ guanosine 3', 5'-cyclic phosphate (1 $\mu\text{Ci}/\mu\text{L}$; Amersham Pharmacia Biotech., Piscataway, NJ) eingesetzt.

Inhibition von PDE-Isoenzymen durch Beispiel 2:

Isoenzym	Species	IC_{50} [nM]
PDE1C	human	720
PDE2A	human	> 4000
PDE3B	human	> 4000
PDE4B	human	> 4000
PDE5A	human	> 4000
PDE7B	human	> 4000
PDE8A	human	> 4000
PDE9A	human	110
PDE10A	human	> 4000
PDE11	human	> 4000

Die PDE9A-inhibierende Wirkung von Beispiel 1 kann durch einen IC_{50} -Wert von $\text{IC}_{50} = 5$ nM experimentell belegt werden.

Erhöhung der intrazellulären neuronalen cGMP-Konzentration in Zellkulturen

PDE9A-Inhibitoren erhöhen die intrazelluläre neuronale cGMP in kultivierten primären kortikalen Neuronen.

5

Rattenembryonen (Embryonaltag E17 - E19) wurden dekapitiert, die Köpfe in mit Präparationsmedium (DMEM, Penicillin/Streptomycin; beides von Gibco) gefüllte Präparationsschalen überführt. Die Kopfhaut und Schädeldecke wurde entfernt, und die freipräparierten Gehirne wurden in eine weitere Petrischale mit Präparationsmedium überführt. Mithilfe eines Binokulars und zweier Pinzetten wurde das Großhirn (Kortex) isoliert und mit Eis auf 4°C gekühlt. Diese Präparation und die Vereinzelung der kortikalen Neuronen wurden dann nach einem Standardprotokoll mit dem Papain-Kit (Worthington Biochemical Corporation, Lakewood, New Jersey 08701, USA) durchgeführt (Huettnier et al. *J. Neurosci.* 1986, 6, 3044-3060.). Die mechanisch vereinzelter kortikalen Neurone wurden zu 150.000 Zellen/Loch in 200 µl Neurobasalmedium/Loch (Neurobasal; B27 Supplement; 2 mM L-Glutamin; in Anwesenheit von Penicillin/Streptomycin; alle Agenzien von Gibco) 7 Tage in 96 Lochplatten (mit Poly-D Lysin 100 µg/ml für 30 min vorbehandelt) unter Standard Bedingungen kultiviert (37°C, 5 % CO₂). Nach 7 Tagen wurde das Medium abgenommen und die Zellen mit HBSS Puffer (Hank's balanced salt solution, Gibco/BRL) gewaschen. Anschließend wurden 100 µl Testsubstanz Beispiel 2 in HBSS Puffer gelöst (zuvor in 100 % DMSO gelöst: 10 mM) auf die Zellen gegeben. Anschließend wurden nochmals 100 µl HBSS Puffer zugegeben, sodass die Endkonzentration der Testsubstanz Beispiel 2 so lag wie in Abb. 1 angegeben und bei 37°C für 20 min inkubiert. Der Testpuffer wurde danach komplett abgenommen. Anschließend wurden die Zellen in 200 µl Lysispuffer (cGMP Kit code RPN 226; von Amersham Pharmacia Biotech.) lysiert und die cGMP Konzentration nach den Angaben des Herstellers gemessen. Alle Messungen wurden in Triplikaten durchgeführt. Die statistische Auswertung erfolgte mit Prism Software Version 2.0 (GraphPad Software Inc., San Diego, CA USA).

30

Inkubation der primären Neuronen mit Beispiel 2 führte zu einer Steigerung des cGMP Gehaltes (Abb. 1).

Langzeitpotenzierung

5 Langzeitpotenzierung wird als ein zelluläres Korrelat für Lern- und Gedächtnisvorgänge angesehen. Zur Bestimmung, ob PDE9 Inhibition einen Einfluss auf Langzeitpotenzierung hat, wurde folgende Methode angewandt:

Rattenhippokampi wurden in einen Winkel von etwa 70 Grad im Verhältnis zur Schnittklinge plaziert (Chopper). In Abständen von 400 µm wurde der Hippokampus
10 geschnitten. Die Schnitte wurden mit Hilfe eines sehr weichen, stark benetzten Pinsels (Marderhaar) von der Klinge genommen und in ein Glasgefäß mit carbogenisierter gekühlter Nährlösung (124 mM NaCl, 4,9 mM KCl, 1,3 mM MgSO₄*7H₂O, 2,5 mM CaCl₂²⁺ Wasser- frei, 1,2 mM KH₂PO₄, 25,6 mM NaHCO₃, 10 mM Glucose, pH 7.4) überführt. Während der Messung befanden sich die Schnitte in
15 einer temperierten Kammer unter einem Flüssigkeitsspiegel von 1-3 mm Höhe. Die Durchflussrate betrug 2,5 ml/min. Die Vorbeegasung erfolgte unter geringen Überdruck (etwa 1 atm) sowie über eine Mikrokanüle in der Vorkammer. Die Schnittkammer war mit der Vorkammer so verbunden, dass eine Minizirkulation aufrechterhalten werden konnte. Als Antrieb der Minizirkulation wurde das durch die Mikro-
20 kanüle ausströmende Carbogen eingesetzt. Die frisch präparierten Hippokampus-schnitte wurden mindestens 1 Stunde bei 33°C in der Schnittkammer adaptiert.

Die Reizstärke wurde so gewählt, dass die fokalen exzitatorischen postsynaptischen Potentiale (fEPSP) 30 % des maximalen exzitatorischen postsynaptischen Potentials
25 (EPSP) betrugen. Mit Hilfe einer monopolaren Stimulationselektrode, die aus lackiertem Edelstahl bestand und eines stromkonstanten, biphasischen Reizgenerators (AM-Systems 2100), wurden lokal die Schaffer-Kollateralen erregt (Spannung: 1-5 V, Impulsbreite einer Polarität 0.1 ms, Gesamtimpuls 0.2 ms). Mit Hilfe von Glaselektroden (Borosilikatglas mit Filament, 1-5 MOhm, Durchmesser:
30 1.5 mm, Spitzendurchmesser: 3-20 µm), die mit normaler Nährlösung gefüllt waren, wurden aus dem Stratum radiatum die exzitatorischen postsynaptischen Potentiale

(fEPSP) registriert. Die Messung der Feldpotentiale geschah gegenüber einer chlorierten Referenzelektrode aus Silber, die sich am Rande der Schnittkammer befand, mit Hilfe eines Gleichspannungsverstärkers. Das Filtern der Feldpotentiale erfolgte über einen Low-Pass Filter (5 kHz). Für die statistische Analyse der Experimente wurde der Anstieg (slope) der fEPSPs (fEPSP-Anstieg) ermittelt. Die Aufnahme, Analyse und Steuerung des Experimentes erfolgte mit Hilfe eines Softwareprogrammes (PWIN), welches in der Abteilung Neurophysiologie des Leibniz-Institutes für Neurobiologie, Magdeburg entwickelt wurde. Die Mittelwertbildung der fEPSP-Anstiegswerte zu den jeweiligen Zeitpunkten und die Konstruktion der Diagramme erfolgte mit Hilfe der Software EXCEL, wobei ein entsprechendes Makro die Aufnahme der Daten automatisierte.

In den Kontrollexperimenten wurde zunächst für 60 – 120 Minuten die basale synaptisch Transmission registriert. Anschließend wurden im Abstand von 200 ms viermal zwei Doppelpulse mit einem Interpulsabstand der Doppelpulse von 10 ms und einer Breite der Einzelpulse von 0,2 ms (schwacher Tetanus) appliziert (Zeitpunkt = 0 Minuten in Abbildung 2). Die resultierende Potenzierung der EPSPs wurde für mindestens 60 Minuten aufgezeichnet. Beispiel 2 wurde im dargestellten Experiment 10 Minuten vor bis 30 Minuten nach der Stimulation eingespült.

Superfusion der Hippokampusschnitte mit einer 10 μ M Lösung von Beispiel 2 führte zu einer signifikanten Steigerung der LTP (Abbildung 2).

Sozialer Wiedererkennungstest:

Der Soziale Wiedererkennungstest ist ein Lern- und Gedächtnistest. Er misst die Fähigkeit von Ratten, zwischen bekannten und unbekannten Artgenossen zu unterscheiden. Deshalb eignet sich dieser Test zur Prüfung der lern- oder gedächtnisverbessernden Wirkung von Testsubstanzen.

Erwachsene Ratten, die in Gruppen gehalten wurden, wurden 30 Minuten vor Testbeginn einzeln in Testkäfige gesetzt. Vier Minuten vor Testbeginn wurde das

Testtier in eine Beobachtungsbox gebracht. Nach dieser Adaptationszeit wurde ein juveniles Tier zu dem Testtier gesetzt und 2 Minuten lang die absolute Zeit gemessen, die das adulte Tier das Junge inspiziert (Trial 1). Gemessen wurden alle deutlich auf das Jungtier gerichteten Verhaltensweisen, d.h. ano-genitale Inspektion, Verfolgen sowie Fellpflege, bei denen das Alttier einen Abstand von höchstens 1 cm zu dem Jungtier hatte. Danach wurde das Juvenile herausgenommen, das Adulte mit Beispiel 2 oder Vehikel behandelt und anschließend in seinen Heimkäfig zurückgesetzt. Nach einer Retentionszeit von 24 Stunden wurde der Test wiederholt (Trial 2). Eine verringerte Soziale Interaktionszeit im Vergleich zu Trial 1 würde anzeigen, dass die adulte Ratte sich an das Jungtier erinnert.

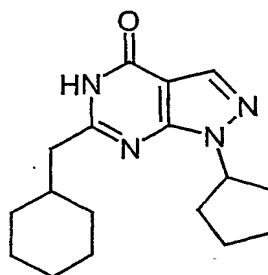
Die adulten Tiere wurden direkt im Anschluss an Trial 1 entweder mit Vehikel (10 % Ethanol, 20 % Solutol, 70 % physiologische Kochsalzlösung) oder 0,1 mg/kg, 0,3 mg/kg, 1,0 mg/kg bzw. 3,0 mg/kg von Beispiel 2 gelöst in 10 % Ethanol, 20 % Solutol, 70 % physiologische Kochsalzlösung intraperitoneal injiziert. Vehikel behandelte Ratten zeigten keine Reduktion der sozialen Interaktionszeit in Trial 2 verglichen mit Trial 1. Sie hatten folglich vergessen, dass sie schon einmal Kontakt mit dem Jungtier hatten. Überraschenderweise war die soziale Interaktionszeit im zweiten Durchgang nach Behandlung Beispiel 2 signifikant gegenüber den Vehikel behandelten reduziert. Dies bedeutet, dass die substanzbehandelten Ratten sich an das juvenile Tier erinnert haben und somit Beispiel 2 eine verbessernde Wirkung auf Lernen und Gedächtnis aufwies.

Verwendete Abkürzungen:

DMSO	Dimethylsulfoxid
d.Th.	der Theorie (bei Ausbeute)
equiv.	Äquivalent(e)
ESI	Elektrospray-Ionisation (bei MS)
HPLC	Hochdruck-, Hochleistungsflüssigchromatographie
MS	Massenspektroskopie
NMR	Kernresonanzspektroskopie
Smp.	Schmelzpunkt

Ausführungsbeispiele:Beispiel 1

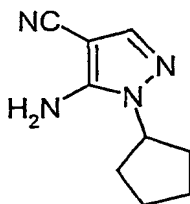
6-(Cyclohexylmethyl)-1-cyclopentyl-1,5-dihydro-4H-pyrazolo[3,4-d]pyrimidin-4-on



5

Stufe 1a)

5-Amino-1-cyclopentyl-1H-pyrazol-4-carbonitril



10

Eine Lösung von Ethoxymethylenmalonsäuredinitril (7.93 g, 64.9 mmol) in 100 ml Methanol wird bei Raumtemperatur unter Argon langsam mit Cyclopentylhydrazin (6.5 g, 64.9 mmol) versetzt, anschließend 3 h unter Rückfluss erhitzt und dann über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Das Lösungsmittel wird am Rotationsverdampfer abgezogen und der Rückstand mit Diethylether verrührt. Der Feststoff wird abge-

15

Ausbeute: 7.24 g (63% d.Th.)

MS (ESI): $m/z = 177$ ($M+H$)⁺

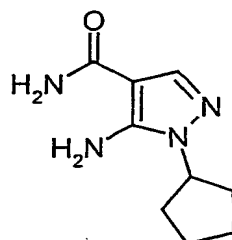
¹H-NMR (200 MHz, CDCl₃): $\delta = 7.5$ (s, 1H), 4.45 (br. s, 2H), 4.35 (m, 1H), 2.2-1.55 (m, 6H) ppm.

20

- 19 -

Stufe 1b)

5-Amino-1-cyclopentyl-1H-pyrazol-4-carboxamid



5

Eine Lösung von 5-Amino-1-cyclopentyl-1H-pyrazol-4-carbonitril (6.74 g, 38.3 mmol) in einem Gemisch aus 300 ml Ethanol und 371 ml konzentrierter wässriger Ammoniaklösung wird bei Raumtemperatur mit 85 ml 30%-iger Wasserstoffperoxidlösung versetzt und über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend werden am Rotationsverdampfer die nichtwässrigen Lösemittel abgezogen. Aus der verbleibenden Mischung fällt das Produkt als Feststoff aus, der abgesaugt, mit Diethylether gewaschen und im Hochvakuum getrocknet wird.

Ausbeute: 5.31 g (71% d.Th.)

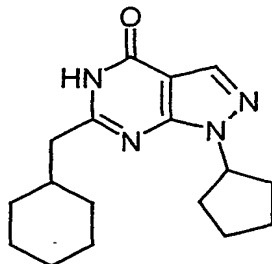
MS (ESI): $m/z = 195$ ($M+H$)⁺

15

¹H-NMR (200 MHz, CDCl₃): $\delta = 7.5$ (s, 1H), 5.6-4.8 (breit, 4H), 4.35 (m, 1H), 2.2-1.55 (m, 8H) ppm.

Stufe 1c)

6-(Cyclohexylmethyl)-1-cyclopentyl-1,5-dihydro-4H-pyrazolo[3,4-d]pyrimidin-4-on



20

- 20 -

Unter Argon werden 75 mg (0.39 mmol) 5-Amino-1-cyclopentyl-1H-pyrazol-4-carboxamid und 183 mg (1.16 mmol, 3 equiv.) Cyclohexylessigsäuremethylester in 1.5 ml absolutem Ethanol vorgelegt. Bei 0°C werden 54 mg Natriumhydrid (60%-ige Dispersion in Mineralöl; 1.35 mmol, 3.5 equiv.) im Argon-Gegenstrom langsam zugegeben. Das entstandene Gemisch wird langsam erwärmt und für 18 h unter Rückfluss gerührt. Zur Aufarbeitung werden 20 ml Wasser zugegeben und das Gemisch mehrmals mit Essigsäureethylester extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über Natriumsulfat getrocknet und im Vakuum eingeengt. Das Rohprodukt wird mittels präparativer HPLC gereinigt.

Ausbeute: 36 mg (31% d.Th.)

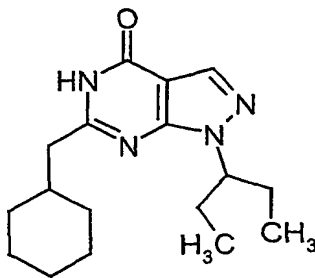
MS (ESI): $m/z = 301$ ($M+H$)⁺

Smp.: 147°C

¹H-NMR (300 MHz, DMSO-d₆): $\delta = 11.95$ (s, 1H), 8.0 (s, 1H), 5.1 (m, 1H), 2.5 (d, 2H), 2.15-1.75 (m, 7H), 1.75-1.55 (m, 7H), 1.3-0.9 (m, 5H) ppm.

Beispiel 2

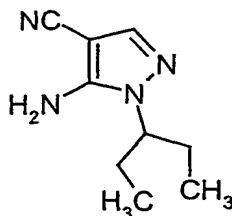
6-(Cyclohexylmethyl)-1-(1-ethylpropyl)-1,5-dihydro-4H-pyrazolo[3,4-d]-pyrimidin-4-on



- 21 -

Stufe 2a)

5-Amino-1-(1-ethylpropyl)-1H-pyrazol-4-carbonitril



5

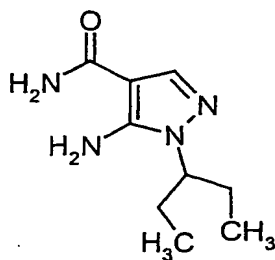
Die Herstellung erfolgt analog der Vorschrift für Beispiel 1 / Stufe 1a).

MS (ESI): $m/z = 179$ ($M+H$)⁺¹H-NMR (300 MHz, DMSO-d₆): $\delta = 7.55$ (s, 1H), 6.45 (s, 2H), 4.0 (m, 1H), 1.8-1.55 (m, 4H), 0.65 (t, 6H) ppm.

10

Stufe 2b)

5-Amino-1-(1-ethylpropyl)-1H-pyrazol-4-carboxamid



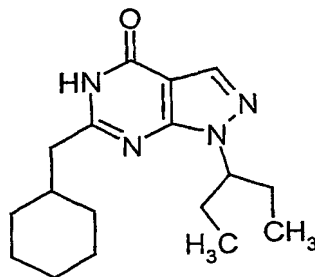
15

Die Herstellung erfolgt analog der Vorschrift für Beispiel 1 / Stufe 1b).

MS (ESI): $m/z = 197$ ($M+H$)⁺¹H-NMR (300 MHz, DMSO-d₆): $\delta = 7.65$ (s, 1H), 6.9 (br. s, 2H), 6.1 (s, 2H), 3.9 (m, 1H), 1.85-1.6 (m, 4H), 0.7 (t, 6H) ppm.

Stufe 2c)

6-(Cyclohexylmethyl)-1-(1-ethylpropyl)-1,5-dihydro-4H-pyrazolo[3,4-d]pyrimidin-4-on



- 5 Analog zu Beispiel 1 / Stufe 1c) wird das Produkt ausgehend von 200 mg (1.02 mmol) 5-Amino-1-(1-ethylpropyl)-1H-pyrazol-4-carboxamid und 482 mg (3.06 mmol) Cyclohexylessigsäuremethylester erhalten.

Ausbeute: 146 mg (47% d.Th.)

MS (ESI): $m/z = 303$ ($M+H$)⁺

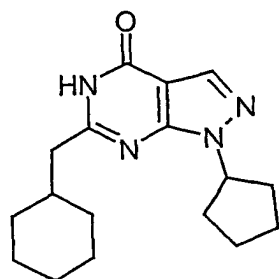
- 10 Smp.: 122°C

¹H-NMR (200 MHz, DMSO-d₆): $\delta = 12.0$ (s, 1H), 8.0 (s, 1H), 4.45 (m, 1H), 2.5 (m, 2H), 2.0-1.5 (m, 10H), 1.4-0.9 (m, 5H), 0.6 (t, 6H, $J = 7.5$ Hz) ppm.

Patentansprüche

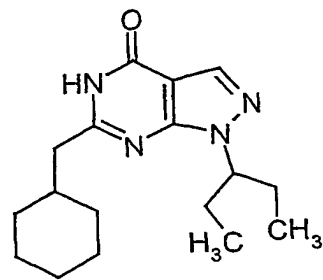
1. Verwendung von selektiven PDE9A-Inhibitoren zur Herstellung von Arzneimitteln zur Verbesserung der Wahrnehmung, Konzentrationsleistung, kognitiver Prozesse, Lernleistung und/oder Gedächtnisleistung.
- 5 2. Verwendung nach Anspruch 1 zur Prophylaxe und/oder Behandlung von Störungen der Wahrnehmung, Konzentrationsleistung, kognitiver Prozesse, Lernleistung und/oder Gedächtnisleistung.
- 10 3. Verwendung nach Anspruch 2, wobei die Störung eine Folge einer Erkrankung ausgewählt aus einer Gruppe bestehend aus Demenz, Schlaganfall, Schädel-Hirn-Trauma, Alzheimersche Krankheit, Parkinsonsche Krankheit, Depression, oder Demenz mit Frontallappendegeneration ist.
- 15 4. Verwendung von PDE9A-Inhibitoren zur Herstellung von Arzneimitteln zur Behandlung und/oder Prophylaxe von Krankheiten des Zentralen Nervensystems, die durch Beeinflussung der cGMP-Spiegel therapiert werden können.
- 20 5. Verwendung nach Anspruch 4, wobei die Krankheit aus einer Gruppe von Krankheiten bestehend aus Demenz, Schlaganfall Schädel-Hirn-Trauma, Alzheimersche Krankheit, Demenz mit Frontallappendegeneration, Lewy-Body-Demenz, vaskuläre Demenz, Attention-Deficit-Syndrome, Aufmerksamkeits- und Konzentrationsstörungen, Parkinsonsche Krankheit, Schizophrenie, Depression, affektive Erkrankungen, Psychosen, Neurosen, Angst, Manie oder manisch-depressive Erkrankungen, Morbus Pick, Schmerz und
25 Epilepsie ausgewählt wird.
6. Verwendung nach einem der Ansprüche 1 bis 5, wobei der selektive PDE9A-Inhibitor eine Verbindung der Formel

- 24 -



(I)

oder

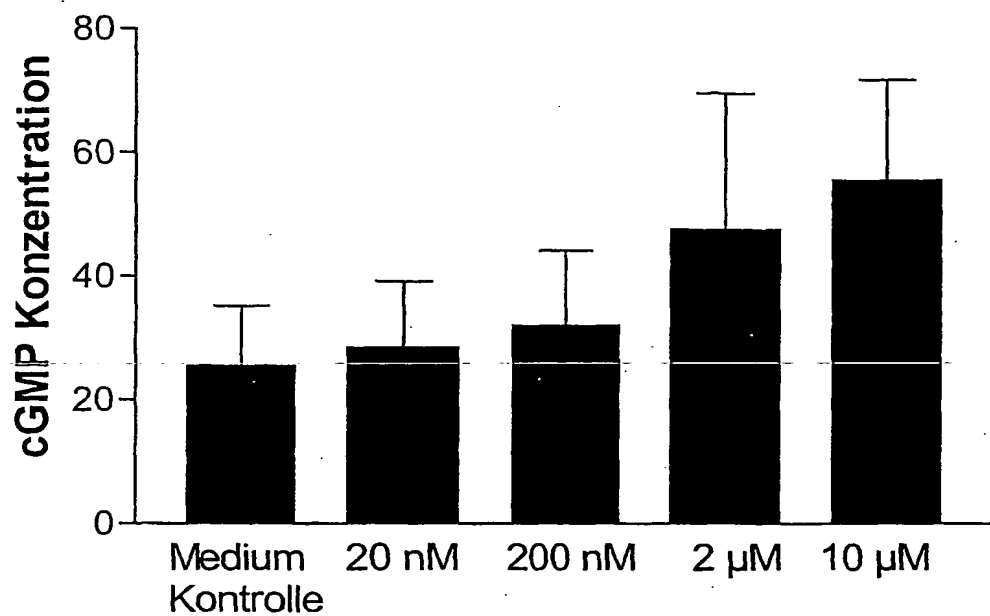


(II)

sowie deren Salze, Solvate und Solvate der Salze ist.

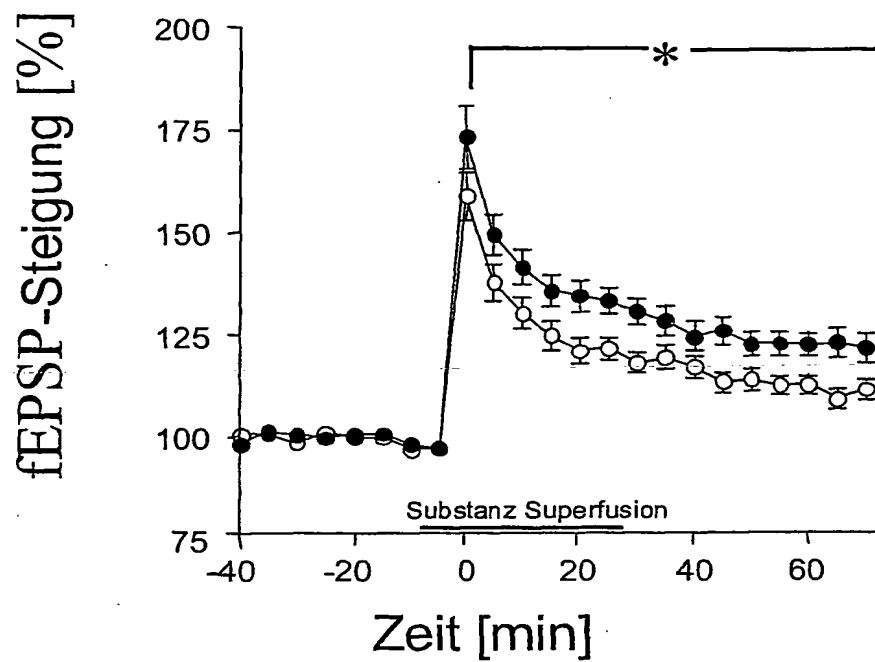
- 1/3 -

Abb. 1



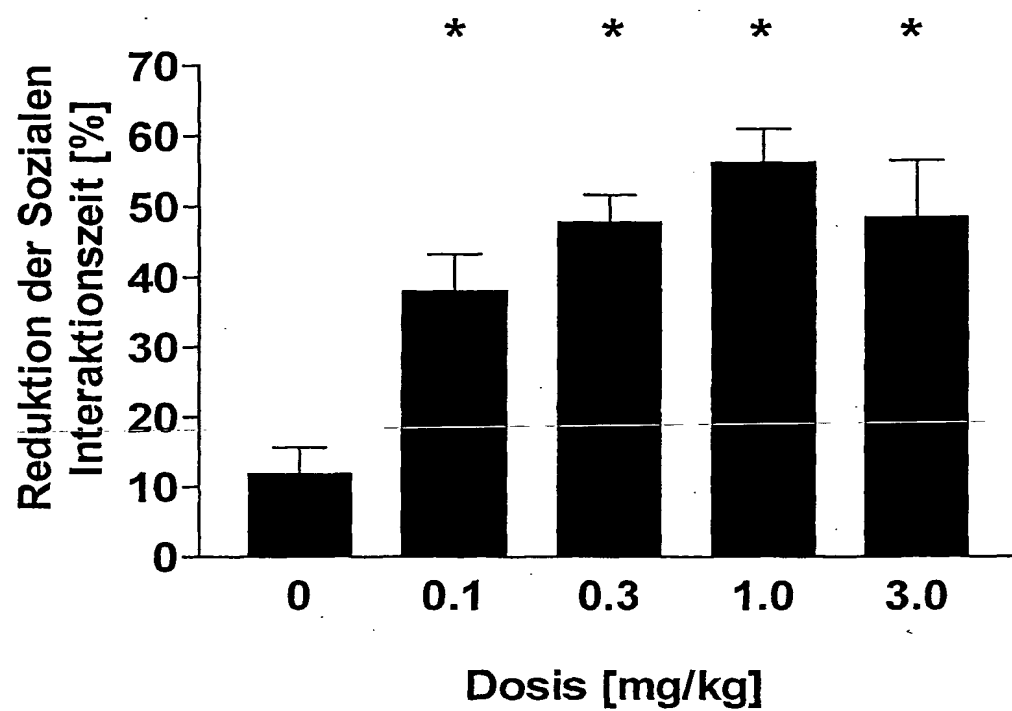
- 2/3 -

Abb. 2



- 3/3 -

Abb. 3



SEQUENCE LISTING

<110> Bayer AG, Bayer Health Care

<120> Selektive Phosphodiesterase 9A-Inhibitoren als Arzneimittel zur
Verbesserung kognitiver Prozesse

<130> Le A 36 288

<160> 1

<170> PatentIn version 3.1

<210> 1

<211> 1991

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 1

cgcgggcggct ggcgtcggga agtacagta aaaagtccga gtgcagccgc cgggcgcagg	60
atgggatccg gtcctccag ctaccggccc aaggccatct acctggacat cgatggacgc	120
attcagaagg taatcttcag caagtactgc aactccagcg acatcatgga cctgttctgc	180
atcgccaccg gcctgcctcg gaacacgacc atctccctgc tgaccaccga cgacgccatg	240
gtctccatcg accccaccat gcccgcgaat tcagaacgca ctccgtacaa agtgagacct	300
gtggccatca agcaactctc cgctggtgtc gaggacaaga gaaccacaag ccgtggccag	360
tctgctgaga gaccttgag ggacagacgg gttgtgggcc tggagcagcc ccggagggaa	420
ggagcatttg aaagtggaca ggtagagccc aggccagag agccccaggg ctgctaccag	480
gaaggccagc gcatccctcc agagagagaa gaattaatcc agagcgtgct ggcgaggtt	540
gcagagcagt tctcaagagc attcaaaatc aatgaactga aagctgaagt tgcaaatcac	600
ttggctgtcc tagagaaacg cgtggaattg gaaggactaa aagtgttga gattgagaaa	660
tgcaagagtg acattaagaa gatgagggag gagctggcgg ccagaagcag caggaccaac	720

- 2 -

tgccccctgta agtacagttt ttgggataac cacaagaagt tgactcctcg acgcgatgtt 780

cccacttacc ccaagtacct gctctctcca gagaccatcg aggccctgcg gaagccgacc 840

tttgacgtct ggctttggga gcccaatgag atgctgagct gcctggagca catgtaccac 900

gacctcgggc tggtcagga cttcagcatc aaccctgtca ccctcaggag gtggctgttc 960

tgtgtccacg acaactacag aaacaacccc ttccacaact tccggcactg cttctgcgtg 1020

gccagatga tgtacagcat ggtctggctc tgcagtctcc aggagaagtt ctcacaaacg 1080

gatatacctga tctaatacag aggggccatc tgccacgac tggaccatcc cggctacaac 1140

aacacgtacc agatcaatgc ccgcacagag ctggcggtcc gctacaatga catctcaccg 1200

ctggagaacc accactgcgc cgtggccttc cagatcctcg ccgagcctga gtgcaacatc 1260

ttctccaaca tcccacctga tgggttcaag cagatccgac agggaatgat cacattaatc 1320

ttggccactg acatggcaag acatgcagaa attatggatt ctttcaaaga gaaaatggag 1380

aattttgact acagcaacga ggagcacatg accctgctga agatgatatt gataaaatgc 1440

tgtgatatct ctaacgaggt ccgtccaatg gaagtcgcag agccttgggt ggactgttta 1500

ttagaggaat attttatgca gagcgaccgt gagaagtcag aaggccttcc tgtggcaccg 1560

ttcatggacc gagacaaagt gaccaaggcc acagcccaga ttgggttcat caagtttgtc 1620

ctgatcccaa tgtttgaaac agtgaccaag ctcttcccca tggttgagga gatcatgctg 1680

cagccacttt gggaatcccg agatcgctac gaggagctga agcggataga tgacgccatg 1740

aaagagttac agaagaagac tgacagcttg acgtctgggg ccaccgagaa gtccagagag 1800

agaagcagag atgtgaaaaa cagtgaagga gactgtgcct gaggaaagcg gggggcgtgg 1860

ctgcagttct ggacgggctg gccgagctgc gcgggatcct tgtgcagggga agagctgccc 1920

tgggcacctg gcaccacaag accatgtttt ctaagaacca ttttgttcac tgatacaaaa 1980

aaaaaaaaa a 1991

(12) NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES
PATENTWESENS (PCT) VERÖFFENTLICHTE INTERNATIONALE ANMELDUNG

(19) Weltorganisation für geistiges Eigentum
Internationales Büro



(43) Internationales Veröffentlichungsdatum
1. April 2004 (01.04.2004)

PCT

(10) Internationale Veröffentlichungsnummer
WO 2004/026286 A3

(51) Internationale Patentklassifikation⁷: A61K 31/4985,
31/00, A61P 25/00

(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP2003/008880

(22) Internationales Anmeldedatum:
11. August 2003 (11.08.2003)

(25) Einreichungssprache: Deutsch

(26) Veröffentlichungssprache: Deutsch

(30) Angaben zur Priorität:
102 38 722.2 23. August 2002 (23.08.2002) DE

(71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme von
US): BAYER HEALTHCARE AG [DE/DE]; 51368 Lev-
erkusen (DE).

(72) Erfinder; und

(75) Erfinder/Anmelder (nur für US): BÖSS, Frank-Ger-
hard [DE/DE]; Auf dem Scheidt 29f, 42115 Wuppertal
(DE). ERB, Christina [DE/DE]; Uhlandstr. 4, 65830 Krif-
tel (DE). HENDRIX, Martin [DE/DE]; Im Geroden 5,
51519 Odenthal (DE). VAN KAMPEN, Marja [DE/DE];
Ahnenweg 2, 40219 Düsseldorf (DE). WUNDER, Frank
[DE/DE]; Schwarzer Weg 251, 42117 Wuppertal (DE).

(74) Gemeinsamer Vertreter: BAYER HEALTHCARE AG;
Law and Patents, Patents and Licensing, 51368 Leverkusen
(DE).

(81) Bestimmungsstaaten (national): AE, AG, AL, AM, AT,
AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR,
CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE,
GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR,
KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK,
MN, MW, MX, MZ, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT,
RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SY, TJ, TM, TN, TR,
TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW.

(84) Bestimmungsstaaten (regional): ARIPO-Patent (GH,
GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW),
eurasisches Patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ,
TM), europäisches Patent (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE,
DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IT, LU, MC, NL,
PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI-Patent (BF, BJ, CF, CG,
CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Erklärung gemäß Regel 4.17:

— hinsichtlich der Berechtigung des Anmelders, ein Patent zu
beantragen und zu erhalten (Regel 4.17 Ziffer ii) für die
folgenden Bestimmungsstaaten AE, AG, AL, AM, AT, AU,
AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ,
DE, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM,
HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK,
LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ,
NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG,
SK, SL, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, UZ, VC, VN,
YU, ZA, ZM, ZW, ARIPO-Patent (GH, GM, KE, LS, MW,
MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), eurasisches Patent (AM,
AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), europäisches Patent
(AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB,
GR, HU, IE, IT, LU, MC, NL, PT, RO, SE, SI, SK, TR),
OAPI-Patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW,
ML, MR, NE, SN, TD, TG)

Veröffentlicht:

— mit internationalem Recherchenbericht
— vor Ablauf der für Änderungen der Ansprüche geltenden
Frist; Veröffentlichung wird wiederholt, falls Änderungen
eintreffen

(88) Veröffentlichungsdatum des internationalen
Recherchenberichts: 3. Juni 2004

Zur Erklärung der Zweibuchstaben-Codes und der anderen Ab-
kürzungen wird auf die Erklärungen ("Guidance Notes on Co-
des and Abbreviations") am Anfang jeder regulären Ausgabe der
PCT-Gazette verwiesen.

(54) Title: SELECTIVE PHOSPHODIESTERASE 9A INHIBITORS AS MEDICAMENTS FOR IMPROVING COGNITIVE
PROCESSES

(54) Bezeichnung: SELEKTIVE PHOSPHODIESTERASE 9A-INHIBITOREN ALS ARZNEIMITTEL ZUR VERBESSERUNG
KOGNITIVER PROZESSE

(57) Abstract: The invention relates to the use of selective phosphodiesterase 9A (PDE9A) inhibitors for producing medicaments
for improving perception, powers of concentration, cognitive processes, learning capacity and/or memory retention.

(57) Zusammenfassung: Die Erfindung betrifft die Verwendung von selektiven Phosphodiesterase 9A (PDE9A)-Inhibitoren zur
Herstellung von Arzneimitteln zur Verbesserung von Wahrnehmung, Konzentrationsleistung, kognitiver Prozesse, Lernleistung
und/oder Gedächtnisleistung.

LeA 36288

WO 2004/026286 A3



—

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No
PCT/EP 03/08880

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER IPC 7 A61K31/4985 A61K31/00 A61P25/00		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) IPC 7 A61K		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used) EPO-Internal, MEDLINE, WPI Data, PAJ, BIOSIS, CHEM ABS Data		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	WO 02 055082 A (LERPINIERE JOANNE ;GAUR SUNEEL (GB); GILLESPIE ROGER JOHN (GB); VE) 18 July 2002 (2002-07-18) the whole document	1-6
P,Y	DE 101 56 249 A (BAYER AG) 28 May 2003 (2003-05-28) paragraphs '0001!', '0019! ----- -/-	1-5
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of box C. <input checked="" type="checkbox"/> Patent family members are listed in annex.		
* Special categories of cited documents : *A* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance *E* earlier document but published on or after the international filing date *L* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) *O* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means *P* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed *T* later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention *X* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone *Y* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art. *&* document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search 26 March 2004		Date of mailing of the international search report 16/04/2004
Name and mailing address of the ISA European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl, Fax (+31-70) 340-3016		Authorized officer Greif, G

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

ional Application No

PCT/EP 03/08880

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	<p>DATABASE MEDLINE 'Online! US NATIONAL LIBRARY OF MEDICINE (NLM), BETHESDA, MD, US; 1997 SCHOUSBOE A ET AL: "Role of Ca+2 and other second messengers in excitatory amino acid receptor mediated neurodegeneration: clinical perspectives." Database accession no. NLM9186041 XP002275139 abstract & CLINICAL NEUROSCIENCE (NEW YORK, N.Y.) UNITED STATES 1997, vol. 4, no. 4, 1997, pages 194-198, ISSN: 1065-6766</p>	1-5
A	<p>FISHER D A ET AL: "Isolation and characterization of PDE9A, a novel human cGMP-specific phosphodiesterase" JOURNAL OF BIOLOGICAL CHEMISTRY, AMERICAN SOCIETY OF BIOLOGICAL CHEMISTS, BALTIMORE, MD, US, vol. 273, no. 25, 19 June 1998 (1998-06-19), pages 15559-15564, XP002091363 ISSN: 0021-9258 the whole document</p>	1-5
P,X	<p>WO 03 037899 A (HUGHES BERNADETTE ;PALMER MICHAEL JOHN (GB); KEMP MARK IAN (GB); P) 8 May 2003 (2003-05-08) page 2, line 24,25,29-33 page 1, line 3-8 claim 1; table 3</p>	1-5

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/EP 03/08880

Box I Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 1 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☐ Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

2. ☒ Claims Nos.: 1-5 (partially),
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:

See supplemental sheet ADDITIONAL MATTER PCT/ISA/210

3. ☐ Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box II Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 2 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:

4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest

- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.
☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

Box I.2

Claims 1-5 (in part)

The subject matter of claims 1 to 5 is defined in terms of a functional feature: "selective PDE9A inhibitors".

Since the components are characterised by a functional feature, it cannot be guaranteed that the search which has been carried out is complete.

It cannot be ruled out that prior art components which also satisfy this functional feature have not been identified as such. If components such as this have not been acknowledged in the application, then they have not been included in the search.

The search was based on the functional features *per se* as well as on the examples provided in the application.

It is also pointed out that the substantive examination can be carried out only to the extent to which a search has been carried out.

The applicant is advised that claims or parts of claims relating to inventions in respect of which no international search report has been established cannot normally be the subject of an international preliminary examination (PCT Rule 66.1(e)). In its capacity as International Preliminary Examining Authority the EPO generally will not carry out a preliminary examination for subjects that have not been searched. This also applies to cases where the claims were amended after receipt of the international search report (PCT Article 19) or where the applicant submits new claims in the course of the procedure under PCT Chapter II.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No
PCT/EP 03/08880

Patent document cited in search report		Publication date		Patent family member(s)	Publication date
WO 02055082	A	18-07-2002	CA	2433997 A1	18-07-2002
			EP	1349552 A1	08-10-2003
			WO	02055082 A1	18-07-2002
DE 10156249	A	28-05-2003	DE	10156249 A1	28-05-2003
			WO	03041725 A2	22-05-2003
WO 03037899	A	08-05-2003	WO	03037899 A1	08-05-2003
			US	2003195205 A1	16-10-2003



INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen
PCT/EP 03/08880

A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES
IPK 7 A61K31/4985 A61K31/00 A61P25/00

Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK

B. RECHERCHIERTE GEBIETE

Recherchierter Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)
IPK 7 A61K

Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)
EPO-Internal, MEDLINE, WPI Data, PAJ, BIOSIS, CHEM ABS Data

C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
A	WO 02 055082 A (LERPINIERE JOANNE ; GAUR SUNEEL (GB); GILLESPIE ROGER JOHN (GB); VE) 18. Juli 2002 (2002-07-18) das ganze Dokument	1-6
P, Y	DE 101 56 249 A (BAYER AG) 28. Mai 2003 (2003-05-28) Absätze '0001!', '0019!' --- -/-	1-5



Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen



Siehe Anhang Patentfamilie

- * Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen :
- * A* Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist
- * E* älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist
- * L* Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)
- * O* Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht
- * P* Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist

- * T* Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist
- * X* Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden
- * Y* Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist
- * &* Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abschlusses der internationalen Recherche

26. März 2004

Absendedatum des internationalen Recherchenberichts

16/04/2004

Name und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde
Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Bevollmächtigter Bediensteter

Greif, G

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

onales Aktenzeichen

PCT/EP 03/08880

C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie°	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
Y	<p>DATABASE MEDLINE 'Online! US NATIONAL LIBRARY OF MEDICINE (NLM), BETHESDA, MD, US; 1997 SCHOUSBOE A ET AL: "Role of Ca²⁺ and other second messengers in excitatory amino acid receptor mediated neurodegeneration: clinical perspectives." Database accession no. NLM9186041 XP002275139 Zusammenfassung & CLINICAL NEUROSCIENCE (NEW YORK, N.Y.) UNITED STATES 1997, Bd. 4, Nr. 4, 1997, Seiten 194-198, ISSN: 1065-6766</p>	1-5
A	<p>FISHER D A ET AL: "Isolation and characterization of PDE9A, a novel human cGMP-specific phosphodiesterase" JOURNAL OF BIOLOGICAL CHEMISTRY, AMERICAN SOCIETY OF BIOLOGICAL CHEMISTS, BALTIMORE, MD, US, Bd. 273, Nr. 25, 19. Juni 1998 (1998-06-19), Seiten 15559-15564, XP002091363 ISSN: 0021-9258 das ganze Dokument</p>	1-5
P, X	<p>WO 03 037899 A (HUGHES BERNADETTE ;PALMER MICHAEL JOHN (GB); KEMP MARK IAN (GB); P) 8. Mai 2003 (2003-05-08) Seite 2, Zeile 24,25,29-33 Seite 1, Zeile 3-8 Anspruch 1; Tabelle 3</p>	1-5

Feld I Bemerkungen zu den Ansprüchen, die sich als nicht recherchierbar erwiesen haben (Fortsetzung von Punkt 2 auf Blatt 1)

Gemäß Artikel 17(2)a wurde aus folgenden Gründen für bestimmte Ansprüche kein Recherchenbericht erstellt:

1. ☐ Ansprüche Nr.
weil sie sich auf Gegenstände beziehen, zu deren Recherche die Behörde nicht verpflichtet ist, nämlich
2. ☒ Ansprüche Nr. 1-5 (partially),
weil sie sich auf Teile der internationalen Anmeldung beziehen, die den vorgeschriebenen Anforderungen so wenig entsprechen, daß eine sinnvolle internationale Recherche nicht durchgeführt werden kann, nämlich
siehe Zusatzblatt WEITERE ANGABEN PCT/ISA/210
3. ☐ Ansprüche Nr.
weil es sich dabei um abhängige Ansprüche handelt, die nicht entsprechend Satz 2 und 3 der Regel 6.4 a) abgefaßt sind.

Feld II Bemerkungen bei mangelnder Einheitlichkeit der Erfindung (Fortsetzung von Punkt 3 auf Blatt 1)

Die internationale Recherchenbehörde hat festgestellt, daß diese internationale Anmeldung mehrere Erfindungen enthält:

1. ☐ Da der Anmelder alle erforderlichen zusätzlichen Recherchegebühren rechtzeitig entrichtet hat, erstreckt sich dieser internationale Recherchenbericht auf alle recherchierbaren Ansprüche.
2. ☐ Da für alle recherchierbaren Ansprüche die Recherche ohne einen Arbeitsaufwand durchgeführt werden konnte, der eine zusätzliche Recherchegebühr gerechtfertigt hätte, hat die Behörde nicht zur Zahlung einer solchen Gebühr aufgefordert.
3. ☐ Da der Anmelder nur einige der erforderlichen zusätzlichen Recherchegebühren rechtzeitig entrichtet hat, erstreckt sich dieser internationale Recherchenbericht nur auf die Ansprüche, für die Gebühren entrichtet worden sind, nämlich auf die Ansprüche Nr.
4. ☐ Der Anmelder hat die erforderlichen zusätzlichen Recherchegebühren nicht rechtzeitig entrichtet. Der internationale Recherchenbericht beschränkt sich daher auf die in den Ansprüchen zuerst erwähnte Erfindung; diese ist in folgenden Ansprüchen erfaßt:

Bemerkungen hinsichtlich eines Widerspruchs

- ☐ Die zusätzlichen Gebühren wurden vom Anmelder unter Widerspruch gezahlt.
- ☐ Die Zahlung zusätzlicher Recherchegebühren erfolgte ohne Widerspruch.

WEITERE ANGABEN

PCT/ISA/ 210

Fortsetzung von Feld I.2

Ansprüche Nr.: 1-5 (partially),

Der Gegenstand der Patentansprüche 1-5 ist durch ein funktionelles Merkmal definiert:

"selektive PDE9A-Inhibitoren"

Aufgrund der Charakterisierung der Komponenten durch ein funktionelles Merkmal kann nicht garantiert werden, dass die durchgeführte Recherche komplett ist.

Es kann nicht ausgeschlossen werden, dass Komponenten im Stand der Technik, die dieses funktionelle Merkmal ebenso erfüllen, nicht als solche identifiziert wurden. Im Falle, dass solche Komponenten auch in der Anmeldung nicht erkannt wurden, wurden sie ebenso nicht in die Recherche miteingeschlossen.

Die Recherche wurde durchgeführt ausgehend von den funktionellen Merkmalen per se als auch von den in der Anmeldung angeführten Beispielen.

Es wird weiterhin darauf hingewiesen, dass die Sachprüfung nur im gleichen Ausmass beschränkt wie die Recherche durchgeführt werden kann.

Der Anmelder wird darauf hingewiesen, daß Patentansprüche, oder Teile von Patentansprüchen, auf Erfindungen, für die kein internationaler Recherchenbericht erstellt wurde, normalerweise nicht Gegenstand einer internationalen vorläufigen Prüfung sein können (Regel 66.1(e) PCT). In seiner Eigenschaft als mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragte Behörde wird das EPA also in der Regel keine vorläufige Prüfung für Gegenstände durchführen, zu denen keine Recherche vorliegt. Dies gilt auch für den Fall, daß die Patentansprüche nach Erhalt des internationalen Recherchenberichtes geändert wurden (Art. 19 PCT), oder für den Fall, daß der Anmelder im Zuge des Verfahrens gemäß Kapitel II PCT neue Patentansprüche vorlegt.

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP 03/08880

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument		Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie		Datum der Veröffentlichung
WO 02055082	A	18-07-2002	CA	2433997 A1	18-07-2002
			EP	1349552 A1	08-10-2003
			WO	02055082 A1	18-07-2002
DE 10156249	A	28-05-2003	DE	10156249 A1	28-05-2003
			WO	03041725 A2	22-05-2003
WO 03037899	A	08-05-2003	WO	03037899 A1	08-05-2003
			US	2003195205 A1	16-10-2003

THIS PAGE BLANK (USPTO)